R. UNIVERSITÀ DI PISA
ISTITUTO DI PATOLOGIA VEGETALE
E DI MICROBIOLOGIA AGRARIA E TECNICA
R. OSSERVATORIO REGIONALE DI FITOPATOLOGIA

156

IMPERIAL MYCOLOGICAL INSTITUTE
AUG 1946

O. VERONA

ULTERIORI ESPERIENZE SULLA DEMOLIZIONE MICROBICA DELL'ACIDO SALICILICO

Atti della Società Toscana di Scienze Naturali
Processi Verbali — Volume XLVII — N. 1

Atti della Società Toscana di Scienze Naturali
PROCESSI VERBALI — VOLUME XLVII — N. 1

O. VERONA

Ulteriori esperienze sulla demolizione microbica dell'acido salicilico

RIASSUNTO. — *Si dimostra ancora una volta la possibilità da parte di microbi di utilizzare l'acido salicilico purchè le quantità presenti nel mezzo non superino l'*1-2.5 ‰.

Occupandomi, con G. Luchetti, della scissione microrganica di qualche glucoside [1]) ebbi modo di seguire la degradazione completa della salicina. Fu notato che questa si trasforma in saligenina per passare, poi, ad acido salicilico.

Nello stesso tempo, a parte, fissavo qualche modalità relativa alla ulteriore demolizione di questo [2]).

L'ossidazione microrganica dell'acido salicilico fu, invero, indagata prima di me da DE JONG (1926) ma con esito negativo, giacchè nessuna delle 58 colture da lui esperimentate risultò utilizzare l'acido aggiunto, nei mezzi di coltura, nelle quantità del 5 ‰ [3]). Apparve essere utilizzato, invece, l'acido paraidrossilbenzoico, un suo isomero, specie per opera di *Bact. aerogenes*, *B. vulgare*, *Bact. fluorescens*, *Mycobacterium phlei*.

Nel 1932 WINOGRADSKY [4]) in uno dei suoi lavori sulla microbiologia del suolo impiegò, con altre sostanze, salicilato di sodio, presente o non azoto, senza poter constatare da parte di batteri una utilizzazione di questo sale.

Tale ultima osservazione unita a quella di DE JONG potrebbe, nonostante i miei primi positivi reperti, lasciare perplessi se dover ammettere, o meno, una qualche utilizzazione dell'acido salicilico da parte dei microbi.

---

[1]) O. VERONA e G. LUCHETTI — *Sulla scissione microrganica di alcuni glucosidi*. Boll. R. Ist. Sup. Agr. di Pisa, vol. VII, 1931.

[2]) O. VERONA — *À propos de l'oxydation microrganique de l'acide salicylique*. Boll. d. Soc. Int. di Microbiologia 1931.

[3]) L. F. DE JONG — *Reijdrage, tot de Kennis van het Mineral proces*. Delft, 1926.

[4]) S. WINOGRADSKY — *Études sur la microbiologie du sol: analyse microbiologique du sol, principes d'une nouvelle méthode*. Ann. de l'Inst. Pasteur, **48**, *89*, 1932.

Perciò ho creduto opportuno di riprendere l'argomento seguendo all'uopo altra tecnica ed estendendo le indagini dal punto di vista qualitativo.

Siccome nelle prime esperienze feci uso di substrati liquidi, questa volta mi sono valso di geli di silice allestiti giusta quanto è specificato nelle singole esperienze:

Esp. I. Grandi piastre al silico-gele imbevute di:

soluz. minerale *)	cc.	10
acqua distillata	cc.	30
nitrato potassico	gr.	0.2
carbonato di calcio	»	0.1
ac. salicilico	»	0.02 (corrispondente allo 0.5 °/oo)

Evaporato in stufa a 45° C.

Seminato con granelli di terra.

Coltivato in termostato a 24° C. per 48 ore.

Alla 48esima ora l'esame batterioscopico mostrò sviluppo di forme batteriche ed indicò trattarsi di colture relativamente pure.

Il controllo chimico eseguito estraendo il gelo con acqua calda accertò la totale scomparsa dell'acido salicilico.

Esp. II. Nelle piastre allestite in identica maniera ma non insemenzate l'acido salicilico fu ritrovato nelle quantità uguali a quelle aggiunte.

Esp. III. Grandi piastre al silico-gele allestite come nella precedente maniera ma insemenzate, anzichè con granelli di terra, con cc. 1 dello stemperamento di gr. 50 in 1000 di acqua.

Reperto batterioscopico e chimico identico a quello registrato nella prima esperienza.

Esp. IV. Grandi piastre al silico-gele allestite come in precedenza. Esse contenevano però gr. 0.04 di ac. salicilico, corrispondente ad una concentrazione pari all' 1 °/oo.

Alla 48esima ora l'esame batterioscopico accertò ancora presenza di forme batteriche, sempre relativamente pure, e l'esame chimico la totale scomparsa dell'acido.

Esp. V. Piastre come nell'esp. IV ma non insemenzate. Sviluppo assente. Acido ritrovato nelle stesse quantità di quelle aggiunte.

(*) La soluz. minerale era costituita di:

acqua d.	200
fosfato bipotassico	1
solfato di magnesio	0.5
cloruro di sodio	0.5
solfato di manganese	0.01

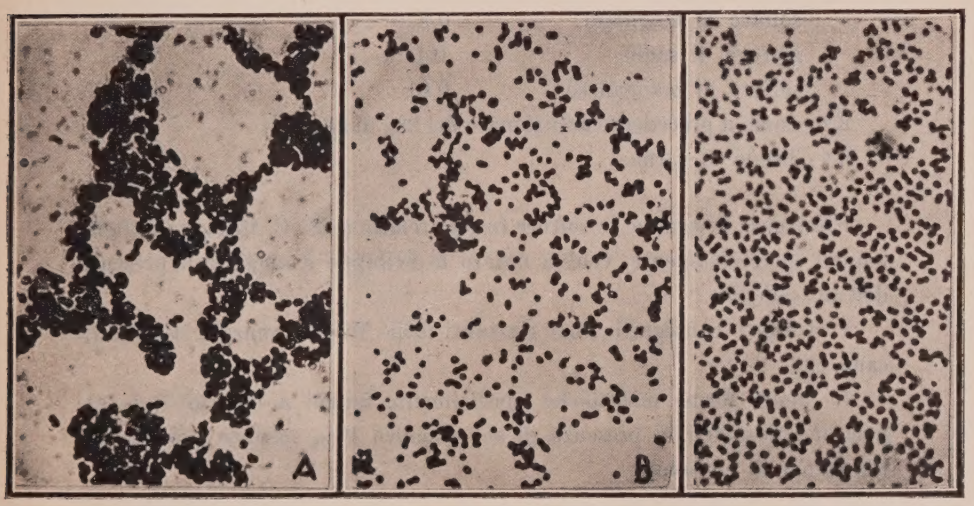
Esp. VI. Grandi piastre al silico-gele allestite come nelle prove precedenti. Esse contenevano però gr. 0.08 di ac. salicilico corrispondente al 2°/oo.

Alla 48'esima ora l'esame batterioscopico rivelò uno sviluppo microbico assai scarso.

All'esame chimico l'acido salicilico risultò residuare nelle piastre in quantità pari a gr. 0.038 in media. Ne venne utilizzato, quindi, il 50% circa.

Siccome nelle precedenti prove non risultò mai diminuzione di acido nelle piastre non insemenzate, in questa e nella successiva esperienza tale controllo fu abbandonato.

Esp. VII. Grandi piastre al silico-gele c/s contenenti gr. 0.20 di ac. salicilico corrispondente al 5°/oo.



Vegetazioni microbiche in piastre al silico-gele contenenti ac. salicilico 2°/oo (A), e 1°/oo (B, C). [A e B, ingr. di circa 1800 d.; C, di circa 1500 d.].

Alla 48esima ora l'esame batterioscopico dimostrò assenza di sviluppo microbico.

All'esame chimico l'acido aggiunto fu ritrovato tale quanto fu aggiunto.

Le descritte esperienze permettono di concludere che:

1.° è possibile da parte dei microbi la utilizzazione e demolizione completa dell'acido salicilico;

2.° tale demolizione è opera, forse, di particolari specie avendo rilevato, gli esami batterioscopici, prevalenza, se non esclusività, di forme coccoidi;

3.° la possibilità di questa demolizione è funzione della concentrazione che non deve oltrepassare l'1.5-2°/oo;

4.° la concentrazione del 5°/oo è tale da inibire lo sviluppo microbico.

Dalle piastre delle esp. I e III fu isolata una forma che lo studio sistematico permise di identificare con *Micrococcus candidus* Cohn *).

A mezzo di tale forma e di altre di collezione fu seguita, in vari mezzi, l'eventuale ossidazione dell'acido salicilico aggiunto, in ogni caso, nella quantità dell'1°/oo.

I substrati, pertanto, all'uopo allestiti furono:

1.°	acqua d.	100
	nitrato potassico	1
	fosfato bipotassico	0.5
	solfato di magnesio	0.2
	cloruro di sodio	0.1
	solfato di manganese	0.01
2.°	come il precedente addizionato del 2% di glucosio	
3.°	brodo di carne.	

Effettuate le semine, le colture furono tenute a 28° C. 40 giorni durante i quali, periodicamente, veniva notato lo sviluppo e saggiata la presenza dell'ac. salicilico.

I risultati conseguiti sono riassunti nella Tabella annessa. Essi indicano che:

1.° molte forme microbiche (specialmente funghi a micelio) sono capaci di svilupparsi in presenza di ac. salicilico 1°/oo assente qualsiasi altra forma di carbonio;

---

*) In *Beiträge z. Biologie*, 1, Heft II, 1872, 160; e in Bergey: *Manual of determinative Bacteriology*. Londra 1930.

Su agar-fagiuoli patina superficiale biancastra lievemente iridescente, poltaceo-mucillaginosa, liscia, scolante, ad orlo leggermente sinuoso.

Su agar-peptone caratteri simili.

Su patata patina leggermente rilevata, biancastra.

In brodo leggera torbidità; in superficie leggera coperta, al fondo deposito abbondante con il tempo.

Elementi rotondi o molto leggermente ovoidi, mobili, a volte abbinati di μ 0,6-0.8 di diametro Gram-positivi.

In gelatina sviluppo in superficie, non lungo il fittone. Fluidificazione assente.

Non produce indolo.

Non riduce nitrati.

Ottimo di temp. 25-28° C.

2.° conseguenza di tale sviluppo è la completa, più o meno rapida, demolizione dell'acido;

3.° la demolizione dell'acido è indipendente dalla presenza, nel mezzo, di altre sorgenti carboniate le quali, tuttavia, lievemente ritardano la demolizione stessa.

Dall'Istituto di Patologia vegetale e Microbiologia agraria e tecnica
della R. Università di Pisa.

	substrato n. 1 privo di sorgente carboniata ac. salicilico 1 ‰								substrato n. 2 presente glucosio 2 % ac. salicilico 1 ‰								substrato n. 3 (brodo di carne) ac. salicilico 1 ‰							
	al 10° g.		al 20° g.		al 30° g.		al 40° g.		al 10° g.		al 20° g.		al 30° g.		al 40° g.		al 10° g.		al 20° g.		al 30° g.		al 40° g.	
	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido	sviluppo	presenza di acido
1. Micrococcus candidus	+	+	+	—					+	+	+	+	+	—			—	+	—	+	—	+	—	+
2. Bact. coli	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
3. Bact. phaseoli	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
4 Bact. luorescens liquef.	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	±
5. Bact. radicicola	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
6. Bact. tumefaciens	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
7. Bac. sp. (gruppo subtilis)	—	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8. Sarcina lutea	—	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
9. Sacch. ellipsoideus	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+
10. Hansenula anomala	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+
11. Mycoturula Pinoy	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12. Asp. niger	+	—							+	+	+	—					+	+	+	—				
13. Trichoderma lignorum	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	—	+	—	+	+	+	+	+	+	+	—
14. Trichotecium roseum	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					+	+	+	+				
15. Asp. ochraceus	+	—							+	+	+	—					+	+	+	—				
16. Stachybotrys atra	+	+	+	+	+	±	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17. Acrostalagmus cephalosporium	+	+	+	+	+	—			+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+
18. Macrosporium commune	+	+	+	+	+	—	+	±	+	+	+	+	+	+	+	±	+	+	+	+	+	+	+	+
19. Pen. crustaceum	+	+	+	—					+	+	+	—					+	+	+	—				